

## ANTICORPOS ANTI-BIOMPHALARIA EM SOROS DE PACIENTES E CAMUNDONGOS INFECTADOS POR SCHISTOSOMA MANSONI

Pedro Paulo CHIEFFI (1,2), Mirthes UEDA (1), Roberto A. Pinto PAES (1,2), Maria da Graça M. HIRATA (1) e Ryuko M. YOKOMIZO (1)

### RESUMO

Com a finalidade de estudar a ocorrência e a dinâmica de surgimento de anticorpos anti-*Biomphalaria* no soro de seres humanos e camundongos infectados por *Schistosoma mansoni*, analisaram-se através de reação de hemaglutinação passiva 52 soros de pacientes comprovadamente parasitados pelo trematódeo e 40 soros de camundongos experimentalmente infectados. Como grupos controle utilizaram-se, no primeiro caso, 42 soros de indivíduos não esquistossomóticos e, no segundo, 15 soros de camundongos não infectados pelo helminto. Os resultados revelaram que nos pacientes esquistossomóticos e especialmente nos camundongos experimentalmente infectados os títulos do anticorpos anti-*Biomphalaria* são mais elevados do que nos grupos controle. O exame de camundongos infectados, em diversas ocasiões, revelou a presença de anticorpos anti-*Biomphalaria*, em níveis pouco variáveis, a partir do 15.º dia após a infecção e, pelo menos, até o 95.º dia, ocasião em que se encerrou o experimento.

### INTRODUÇÃO

A existência de fenômeno de mascaramento antigênico na esquistossomose, decorrente da adsorção ou produção de antígenos semelhantes a constituintes do hospedeiro por esquistossômulos durante sua fase de evolução no hospedeiro vertebrado, é admitida há mais de uma década. Este processo, perdurando após a maturação dos vermes, seria responsável pela evasão do parasita frente a resposta imunitária do hospedeiro que o alberga<sup>4</sup>.

Ao nível do hospedeiro intermediário, diversos Autores mostraram a ocorrência de antígenos comuns entre miracídeos, esporocistos e cercárias de *Schistosoma haematobium* e *S. mansoni* e planorbídeos<sup>3,8,2,6,7,10</sup>.

No soro de seres humanos infectados por *S. mansoni* e *S. haematobium* demonstrou-se a existência de anticorpos anti-caramujo<sup>5,7</sup>.

No presente trabalho estuda-se a presença de anticorpos anti-*Biomphalaria* no soro de pacientes infectados por *S. mansoni* em nosso meio e procura-se determinar a dinâmica de aparecimento destes anticorpos em camundongos infectados experimentalmente pelo trematódeo.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em duas partes. Na primeira pesquisou-se a presença de anticorpos anti-*Biomphalaria* em soros de 52 pacientes comprovadamente infectados por *S. mansoni* e provenientes de diversas regiões do país, além de 42 soros de indivíduos originários de regiões não endêmicas para esquistossomose e com exames coprológicos negativos. Na segunda etapa do trabalho procurou-se estudar a

(1) Instituto Adolfo Lutz, São Paulo

(2) Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

dinâmica de aparecimento de anticorpos anti-caramujo, em camundongos experimentalmente infectados. Utilizaram-se 60 camundongos albinos, machos, cepa A/SN, com dois meses de idade, divididos em dois lotes. O primeiro lote, composto de 45 animais, foi infectado, por via transcutânea, com 40 a 50 cercárias de *S. mansoni* (cepa SC-3), obtidas de 15 exemplares de *Biomphalaria glabrata*; os restantes 15 camundongos constituíram o grupo controle, não infectado.

A partir do 15.º dia até o 95.º dia após a infecção, em diversas ocasiões, animais dos grupos controle e experimental foram sangrados (ver figura). No grupo experimental cinco camundongos morreram antes do término do experimento, permitindo obter-se soro em apenas 40 animais; no grupo controle não ocorreu nenhum óbito.

Pesquisou-se a presença de anticorpos anti-Biomphalaria nos soros humanos e de camundongos através de reação de hemaglutinação passiva, utilizando-se antígeno extraído de exemplares não infectados de *B. glabrata*, criados em laboratório.

Para a realização da reação de hemaglutinação passiva empregaram-se hemácias humanas do grupo O, Rh negativo, formolizadas e tainizadas. Obteve-se a sensibilização das hemácias com o antígeno específico na concentração de 500 a 600 mcg P/ml. Efetuou-se a reação por técnica de microtitulação em placas de poliestireno com fundo em V.

Para a extração do antígeno exemplares de *B. glabrata*, livres de infecção por larvas de trematódeos, foram retirados de suas conchas e lavados três vezes em solução de NaCl 0,15 M e, a seguir, pesados. Para cada 450 mg de mo-

lusco adicionaram-se 3 ml de solução de Triton X100 (octil fenoxi polietoxietanol) a 1%. A suspensão obtida foi homogeneizada, permanecendo a 4°C durante 15 a 18 horas. A seguir, centrifugou-se a suspensão em centrífuga Servall RC-2 a 32.000 g, durante 30 minutos. O sobrenadante, que constituiu a solução antigênica, foi separado; dosou-se seu teor protéico pelo método de biureto.

Por método análogo ao acima descrito, obtiveram-se antígenos de duas outras espécies de moluscos, *B. tenagophila* e *Bradybaena* sp., que foram utilizados, na segunda etapa da pesquisa, com a finalidade de determinar a especificidade dos anticorpos anti-Biomphalaria formados nos camundongos infectados por *S. mansoni*. Para tanto, 20 soros de camundongos infectados por *S. mansoni* foram, concomitantemente, testados com antígenos de *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *Bradybaena* sp..

## RESULTADOS

Na primeira parte do trabalho, notou-se que mesmo indivíduos não infectados por *S. mansoni* podem apresentar anticorpos anti-Biomphalaria em títulos baixos; contudo, nos pacientes infectados pelo parasita os títulos observados foram significativamente mais elevados, conforme mostra a Tabela I.

Na segunda etapa, os resultados obtidos em camundongos mostraram também a presença de anticorpos anti-Biomphalaria em animais não infectados por *S. mansoni*, todavia em títulos bem menores do que o verificado em seres humanos. Ao mesmo tempo, 28 (70%) dentre os 40 camundongos infectados revelaram títulos superiores aos do grupo controle não infectado (ver Tabela II).

T A B E L A I

Distribuição dos títulos de anticorpos anti-Biomphalaria em soros de pacientes esquistossomóticos e em controles não infectados

Soros (diluição)	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	Total
Pacientes									
Esquistossomóticos	—	—	—	10	12	19	10	1	52
Controles	1	1	6	15	13	6	—	—	42

T A B E L A II

Distribuição dos títulos de anticorpos anti-Biomphalaria em soros de camundongos infectados experimentalmente por *S. mansoni* e em controles não infectados

Soros (diluição) Camundongos	1:2	1:4	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	Total
Infectados	2	3	3	4	10	7	6	5	40
Controles	2	3	3	7	—	—	—	—	15

A figura abaixo mostra que já a partir do 15.º dia após infecção por *S. mansoni* se encontram anticorpos anti-Biomphalaria no soro

de camundongos, mantendo-se os títulos, de forma quase inalterável, até, pelo menos, o 95.º dia pós infecção.

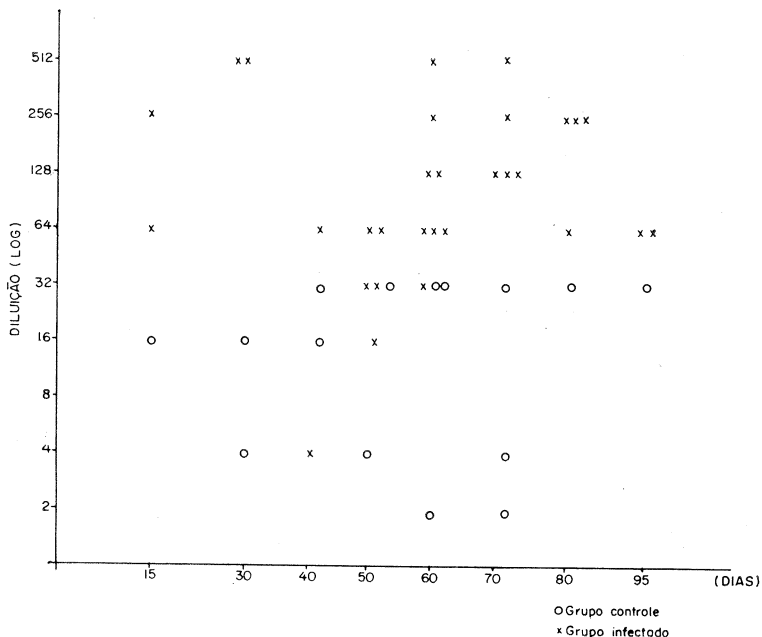


Figura: Títulos de anticorpos anti-Biomphalaria, detectados por hemaglutinação passiva, em soros de camundongos infectados por *Schistosoma mansoni*

Quando se testaram 20 soros de camundongos com antígeno extraído de *B. tenagophila* e os resultados foram comparados com os obtidos com o antígeno produzido a partir de exemplares de *B. glabrata*, verificou-se pequena discordância nos títulos de anticorpos anti-caramujo. Em 14 soros os títulos foram iguais ou diferiram em apenas uma diluição e em 6 soros obtiveram-se títulos menores, duas ou mais diluições, quando se utilizou o antígeno extraído de *B. tenagophila*. Quando estes mesmos soros foram testados com antígeno obtido

a partir de exemplares de *Bradybaena* sp., não ocorreu aglutinação em nenhum caso.

## DISCUSSÃO

Não existe ainda uma explicação definitiva para a existência de anticorpos anti-caramujo no soro do hospedeiro vertebrado de trematódeos do gênero *Schistosoma*. Achados de JACKSON<sup>6</sup>, que trabalhou com *S. haematobium*, levantam a hipótese de carreamento de antígenos do planorbídeo pelo glicocálice das

cercárias, para o organismo do hospedeiro vertebrado. Outros pesquisadores<sup>3,5,1</sup> obtiveram resultados que levam a supor que existe reatividade cruzada entre antígenos de **Biomphalaria** e fases evolutivas de **S. mansoni**. STEIN & BASCH<sup>9</sup> acreditam, por sua vez, que é possível que estágios evolutivos de **S. mansoni**, ainda no interior de caramujos, sejam capazes de sintetizar antígenos de superfície imunologicamente semelhantes aos do hospedeiro intermediário, configurando-se mecanismo de mascaramento antigênico comparável ao já descrito para a evolução do parasita em seu hospedeiro vertebrado<sup>4</sup>.

Os resultados do presente trabalho sugerem a existência de anticorpos anti-**Biomphalaria** no soro de pacientes com infecção esquistossomótica, assim como em camundongos experimentalmente infectados pelo trematódeo, confirmando achados de outros pesquisadores<sup>6,7,10</sup>. É importante destacar que tanto no soro de camundongos do grupo controle, como em seres humanos não infectados por **S. mansoni**, ocorreram naturalmente, em títulos pouco elevados, anticorpos anti-**Biomphalaria**. Resultado semelhante foi comunicado por JACKSON & DE MOOR<sup>7</sup>. Todavia, o encontro de títulos mais elevados de anticorpos anti-**Biomphalaria** em 70% dos camundongos infectados por **S. mansoni**, mostra que a presença do parasita é importante para a manutenção de níveis altos de tais anticorpos.

Os anticorpos anti-**Biomphalaria** surgiram precocemente nos animais infectados, podendo ser demonstrados a partir do 15.º dia pós infecção e se mantiveram, sem grandes variações, até, pelo menos, o 95.º dia. Verificou-se reatividade cruzada entre os soros de camundongos testados e antígenos obtidos a partir de **B. glabrata** e **B. tenagophila**, embora as cercárias utilizadas para a infecção dos camundongos fossem todas originárias de exemplares de **B. glabrata**. Este fato, aliado à falta de reatividade dos soros estudados com o antígeno obtido a partir de exemplares de **Bradybaena** sp., leva a supor que os anticorpos anti-caramujo que surgem na infecção esquistossomótica são gênero-específicos.

Dentro das limitações metodológicas que existem no presente trabalho não é possível sugerir outras hipóteses, além das já existentes,

para explicar a presença de anticorpos anti-**Biomphalaria** no soro de hospedeiros vertebrados de **S. mansoni**. Contudo, este fenômeno merece estudos mais aprofundados pela possibilidade de elucidar melhor certos aspectos da biologia dos trematódeos do gênero **Schistosoma**.

## SUMMARY

### Anti-Biomphalaria antibodies in sera from patients and mice infected with *Schistosoma mansoni*

Fifty-two sera from bilharzia infected individuals and 40 sera from mice experimentally infected with **S. mansoni** were studied by means of passive haemagglutination test, in order to investigate the occurrence of anti-**Biomphalaria** antibodies. As control groups, in the first study 42 sera from healthy individuals were employed, and 15 uninfected mice sera in the second case. The results indicated that the titers of anti-**Biomphalaria** antibodies are higher in sera from patients with **S. mansoni** infections than in the control group. This phenomenon was strikingly evident when results obtained from infected mice were considered.

The sera from infected mice collected at different time demonstrated the occurrence of anti-**Biomphalaria** antibodies, with an inconspicuous variation in titers, as from the 15th day after infection and, at least until the 95th day, just the time when this experiment was brought to end.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BASCH, P. F. & DI CONZA, J. J. — Snails and larval schistosomes: common antigens. 11th. Joint Conference on Parasitic Diseases, Japan, 1976. Apud: STEIN, P. C. & BASCH, P. F. — Bge snails cell-line antigens: ineffectiveness as antischistosomal vaccine in mice. *J. Parasit.* 65: 862-869, 1979.
2. BENEX, J. & TRIBOULEY, J. — Mise en évidence à la surface de la cercaire de *Schistosoma mansoni* d'antigène possédant le caractère planorbe. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 279: 683-685, 1974.
3. CAPRON, A.; BIGUET, J.; TRAN VAN KY, P. & MOSCHETTO, Y. — Immunological studies in various types of schistosomiasis. *Ann. New York Acad. Sci.* 160: 863-879, 1969.
4. CLEGG, J. A.; SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. — Concomitant immunity and "host antigens" associated with schistosomiasis. *Int. J. Parasit.* 1: 43-49, 1971.

---

CHIEFFI, P. P.; UEDA, M.; PAES, R. A. P.; HIRATA, M. da G. M. & YOKOMIZO, R. M. — Anticorpos anti-Biomphalaria em soros de pacientes e camundongos infectados por *Schistosoma mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 24: 193-197, 1982.

---

5. DEELDER, A. M.; SNOIJINK, J. J. & PLOEM, J. S. — Immunoprecipitation and class-specific immunofluorescence titration of human serum antibodies to *Schistosoma mansoni* antigens. *Z. Parasitenkd* 46: 195-201, 1975.
6. JACKSON, T. F. H. G. — Intermediate host antigens associated with the cercariae of *Schistosoma haematobium*. *J. Helminth.* 50: 45-47, 1976.
7. JACKSON, T. F. H. G. & DE MOOR, P. P. — A demonstration of the presence of anti-snail antibodies in individuals infected with *Schistosoma haematobium*. *J. Helminth.* 50: 59-63, 1976.
8. KEMP, W. M.; GREENE, N. D. & DAMIAN, R. T. — Sharing of cercarienhüllen reaktion antigens between *Schistosoma mansoni* cercariae and adults and uninfected *Biomphalaria pfeifferi*. *Am. J. trop. Med. Hyg.* 23: 197-202, 1974.
9. STEIN, P. C. & BASCH, P. F. — Bge snail cell-line antigens: ineffectiveness as antischistosomal vaccine in mice. *J. Parasit.* 65: 862-869, 1979.
10. YOSHINO, T. P. & CHENG, T. C. — Snail host-like antigens associated with the surface membranes of *Schistosoma mansoni* miracidia. *J. Parasit.* 64: 752-754, 1978.

---

Recebido para publicação em 31/7/1981.